

DIE BEEINFLUSSUNG DER BILDUNG HUMORALER ANTIKÖRPER
DURCH DIE ZYTOSTATISCHEN SUBSTANZEN AZATHIOPRIN,
CYCLOPHOSPHAMID UND IPHOSPHAMID IM TIEREXPERIMENT

GERNOT HASPEL

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554420_0006

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

(Direktor: Professor Dr. P. Schölmerich)

DIE BEEINFLUSSUNG DER BILDUNG HUMORALER ANTIKÖRPER
DURCH DIE ZYTOSTATISCHEN SUBSTANZEN AZATHIOPRIN,
CYCLOPHOSPHAMID UND IPHOSPHAMID IM TIEREXPERIMENT

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

GERNOT HASPEL

aus Allenstein/Ostpreußen

MAINZ 1973

A. EINLEITUNG

Die immunsuppressive Eigenschaft zahlreicher heute verfügbarer Pharmaka zur Therapie maligner Tumore gewinnt in Klinik und Forschung zunehmend an Bedeutung. In der Klinik sind es insbesondere die Organtransplantationen und Autoimmunerkrankungen, bei denen man die Herabsetzung oder - im Idealfall - die völlige Unterdrückung der Immunreaktion anstrebt.

Transplantationsexperimente und Untersuchungen über die Wirkung auf Autoimmunerkrankungen erscheinen jedoch als ein zu komplexes Untersuchungsmodell zum Studium der immunsuppressiven Potenz bestimmter Pharmaka.

Viele Autoren haben mit den Zytostatika Azathioprin und Cyclophosphamid im Tierexperiment eine Unterdrückung oder Verzögerung der Antikörperproduktion erreicht (Übersichten bei POTEL, 26, SCHWARTZ, 30, MAKINODAN, 22 und STERZL, 38). Es wurden stets hohe Dosen kurzzeitig verabreicht, übereinstimmend waren die besten Ergebnisse dieser sogenannten "Stoßtherapie" zu erzielen, wenn die Behandlung gleichzeitig mit oder kurz nach Immunisierung begann.

Mit der vorliegenden Arbeit soll ein Teilproblem der während der letzten Jahre in der II. Medizinischen Klinik der Universitätskliniken Mainz durchgeführten Untersuchungen zur Suppression humoraler Immunreaktionen im Kaninchen bearbeitet werden.

In Ergänzung zu den bereits vorliegenden Arbeiten von MEYER ZUM BÜSCHENFELDE und FREUDENBERG, 23, und BRODEHL, 6, mit ähnlicher Versuchsanordnung (Kaninchenmodell) sollte die Frage nach pharmakodynamischen Unterschieden der immunsuppressiven Wirksamkeit von Cyclophosphamid und Iphosphamid in Abhängigkeit von der Applikationsart geprüft werden. Cyclophosphamid und Iphosphamid sollten im Gegensatz zu den Versuchen von BRODEHL, 6 (oral mediziert) täglich intraperitoneal verabreicht werden. 7 mg Azathioprin/kg/Tag diene als Kontrolle und zur Überprüfung früherer Versuche von MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, 23. Weiterhin dienten unbehandelte Tiere als Kontrollen.

Aus den bisherigen Versuchen geht hervor, daß

- a) 8 mg Iphosphamid /kg/Tag oral im Kaninchen die immunologische Primärreaktion vollständig unterdrücken,

- b) äquivalente Dosen von Cyclophosphamid oral die humorale Primärreaktion nur teilweise unterdrücken,
- c) 8 - 10 mg Cyclophosphamid /kg/Tag bzw. lphosphamid - oral appliziert - die humorale Sekundärreaktion nicht supprimieren und
- d) Tiere nach erfolgreicher Unterdrückung der Primärreaktion nach einem zweiten Antigenstimulus wie nicht vorimmunisierte Tiere unter 10 mg/kg/Tag Cyclophosphamid und lphosphamid reagieren.

Die Aufgaben dieser Arbeit waren es, im Kaninchenexperiment die unter a - d dargestellten Ergebnisse nach oraler Medikation an einem äquivalenten Tiermaterial mit Cyclophosphamid bei intraperitonealer Applikation zu überprüfen.

Im einzelnen stellten sich die Fragen

1. Sind alkylierende Substanzen wie Cyclophosphamid und lphosphamid in den Dosen, in denen Azathioprin oral eine vollständige Unterdrückung erreicht, äquivalent immunsuppressiv?
2. Wie ist der Einfluß der genannten Substanzen auf die immunologische Sekundärreaktion?

Nach MAKINODAN, 22, hängt die Art der Immunantwort von vielen und sehr verschiedenen Faktoren ab. Diese Faktoren sind bei der Bewertung der Suppression von Immunreaktionen durch Pharmaka zu berücksichtigen. Wegen dieser mannigfaltigen Variablen sind zu präzisen zytokinetischen Studien zu diesem Problem Experimente an unversehrten lebenden Tieren nur bedingt geeignet. Sogenannten "In-vivo-Kulturen", 16, und der "Plaque-Spleen-Cell-Method", 2, ist hierzu der Vorzug zu geben.

Aus kurativ-medizinischer Sicht steht jedoch die Erkennung der Toxizitätsgrenze bei gleichzeitiger optimaler immunsuppressiver Wirkung im Vordergrund, so daß für diese Fragestellung lebende Tiere verwendet werden sollen.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. VERSUCHSTIERE

1. Für die Experimente wurden 2,5 - 3,5 kg schwere Bastardkaninchen (Züchter: Liebau, Kirchhain) beiderlei Geschlechts verwendet.

Sie wurden in einem klimatisierten Tierstall einzeln in Drahtkäfigen gehalten. Die Nahrung bestand aus Wasser mittels Trinkflasche ad libitum und Hauna Kaninchenfutter L (Pressfutter der Brückenmühle Hünfeld).

2. Tiere mit möglichst gleichem Gewicht bildeten eine Versuchsgruppe (n = 3 - 6).

II. GETESTETE SUBSTANZEN

1. Endoxan^R (Hersteller: Asta Werke AG Brackwede) ist N'N-Bis (2-chloräthyl) N', O-propylenphosphorsäureesterdiamid (INN: Cyclophosphamid = CP).

Jeweils 100 mg CP als Trockensubstanz in Ampullen bezogen, wurden in 10 ml, Aqua bidest. gelöst; somit enthielt 1 ml Lösung 10 mg CP.

2. Asta Z 4942 (INN: Iphosphamid = IP) (Asta Werke AG Brackwede), ein Derivat von CP, ist 3- (2-chloräthyl)-2- (2-chloräthylamino)- tetrahydro- 2H- 1, 3, 2- oxazaphosphorin -2-oxid. IP wurde geliefert in Ampullen mit jeweils 200 mg Inhalt. Nach Lösung in 10 ml Aqua bidest. enthielt 1 ml Lösung 20 mg IP.

3. Das Azathioprin-Präparat Imurek^R (AP) der Wellcome GmbH ist wasserunlöslich. Es wurde in Aqua ad fontem durch mindestens 20-minütiges Rühren homogen aufgeschwemmt, so daß 1 ml der Aufschwemmung 10 mg AP enthielt.

III. APPLIKATION UND DOSIERUNG

1. Die Suspensionen wurden frisch hergestellt und innerhalb eines Zeitraumes von einer Stunde nach dem Lösen den Tieren verabreicht.

2. CP und IP wurden intraperitoneal (i.p.) injiziert, AP durch eine Plastikschlundsonde verfüttert.

3. Verschiedene Versuchsgruppen erhielten pro Tag 4, 6, 8 und 12 mg CP /kg Körpergewicht bzw. entsprechende Dosen IP. Einer Versuchsgruppe wurden 7 mg AP /kg/Tag verabfolgt.

IV. IMMUNISIERUNG

Als Antigen (Ag) wurden 100 mg Human Cohn'sche Fraktion II (Hyland 750 D 2), gelöst in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung 6 Tage nach Behandlungsbeginn i.p. injiziert.

Mit Ausnahme der Kontrollgruppen wurden alle Tiere immunisiert. Die injizierten Antigene wurden als zirkulierende Proteine im Serum mit der Agardoppeldiffusionstechnik nach OUCHTERLONY, 25, unter Verwendung von "Antihuman- γ G-Globulin" vom Kaninchen (Hyland) in jeder Serumprobe kontrolliert.

Parallel zu dem Ag-Nachweis wurden während der Versuchsdauer die Antikörper (Ak) unter Verwendung von tannierten Hammelerythrozyten durch die "passive Haemagglutination" (Technik in Anlehnung an STAVITZKY, 33) bestimmt; die Methode ist ausführlich bei BRODEHL, 6, beschrieben.

V. UNTERSUCHTE PARAMETER

1. Wöchentliche Gewichtskontrolle

2. Untersuchungen des durch Punktion aus der Ohrvene gewonnenen Blutes erfolgten vor Therapiebeginn und am 1., 4., 7., 10., 12., 18., 25. und 36. Tage nach Immunisierung.

Im einzelnen wurden bestimmt:

Zahl der Erythrozyten (Erymat, Hellige) (Vorversuch),

Zahl der Leukozyten (laborübliche Technik mit Leukozytenpipette, 2%ige Essig-, säure, Thomaszählkammer),

der Anteil der peripheren Lymphozyten im weißen Blutbild des nach PAPENHEIM gefärbten Blutausstriches,

Immunelektrophorese: Kontrolle des Versuchsserums und eines Kaninchennormalsersums unter Verwendung von "Goat - anti - rabbit - γ G-Globulin" (Hyland) als Antiserum (Vorversuch).

Tabelle 1

Tiermaterial und Medikation

Dosierung in mg/kg Körpergewicht /Tag i.p.	Anzahl der Tiere be- handelt mit			Kontrolltiere
	CP	IP	AP	
4	3	3		4
6	3	3		4
8	4	3	7 ^x	4
12	3	3		4
und höher	3	3		4

^x 7 mg/kg/Tag per os

VI. VORVERSUCH

In Vorversuchen wurden Dosen von CP und IP nach i.p.-Applikation auf ihre Toxizität bzw. Verträglichkeit getestet. Hierbei wurden jeder Versuchsgruppe 2, 4, 8 und 12 mg CP oder IP pro kg Körpergewicht über einen Zeitraum von 4 Wochen täglich verabreicht. Nach 4 Wochen erhielten lediglich die Gruppen mit der höchsten Dosierung weiterhin die Substanzen. Die täglichen Dosen wurden erhöht auf 14 mg/kg, nach weiteren 4 Wochen erfolgte eine Steigerung auf 16 mg/kg/Tag. Nach insgesamt 10 Wochen endete der Vorversuch. Blut wurde den Tieren wöchentlich entnommen. Untersucht wurde die Zahl der Erythrozyten, der Leukozyten, der Anteil der Lymphozyten im peripheren Blutbild und die Immunelektrophorese der Ig-G unter dieser Behandlung.

C. ERGEBNISSE DES VORVERSUCHES

I. GEWICHTE

Unter CP-Behandlung lagen die Gewichte der Tiere bei Versuchsende nur wenige Gramm unter (4 und 8 mg/kg/Tag) oder über (2 und 12 mg/kg/Tag) dem Gewicht bei Versuchsbeginn. IP beeinflusste das Gewicht der Tiere in keiner Gruppe (Tab. 2).

Tabelle 2

Verhalten der Gewichte unter CP- und IP-Behandlung (Vorversuch)

(Mittelwerte der Versuchsgruppen)

Woche nach Behandlungs- beginn	Mittelwert der Gewichte bei Behandlung mit CP				Mittelwert der Gewichte bei Behandlung mit IP			
	2	4	8	12	2	4	8	12
	mg/kg Körpergewicht / Tag				mg/kg Körpergewicht / Tag			
0	3,26	3,56	3,34	3,45	3,46	3,29	3,57	3,64
1	3,29	3,54	3,36	3,39	3,60	3,55	3,71	3,71
2	3,21	3,43	3,14	3,18	3,46	3,30	3,41	3,53
3	3,17	3,46	3,23	3,31	3,53	3,68	3,66	3,78
4	3,36	3,23	3,31	3,40	3,69	3,68	3,48	3,71
5 ⁺				3,42				3,73
6				3,37				3,74
7				3,36				3,72
8				3,46				3,78
9 ^x				3,31				3,62
10				3,53				3,70

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

II. ERYTHROZYTEN

Das rote Blutbild der Versuchstiere zeigte unter längerdauernder CP-Gabe Tendenzen zur Anämie (bis zu 3 Millionen pro mm³) (Abb. 1), während die Erythrozytenzahlen durch IP in den verabfolgten Dosen keine pathologischen Werte aufzeigten (Abb. 2).

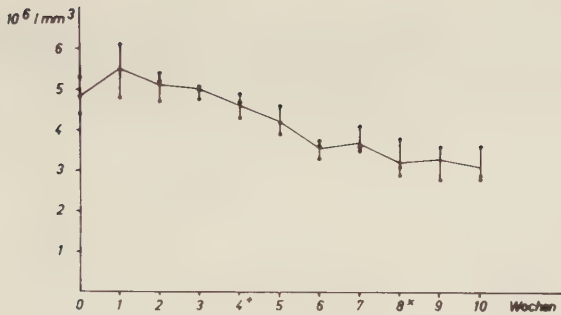


Abb. 1 Verhalten der Erythrozyten unter Behandlung mit CP (12 mg/kg/Tag)

Dargestellt sind die Einzelwerte der Tiere, die Kurve verbindet die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe.

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

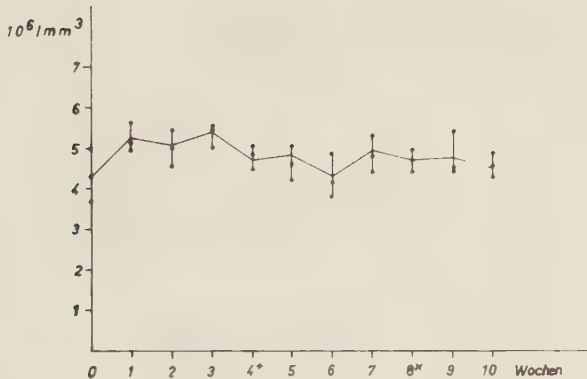


Abb. 2 Verhalten der Erythrozyten unter Behandlung mit IP (12 mg/kg/Tag)

Dargestellt sind die Einzelwerte der Tiere; die Kurve verbindet die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe.

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

III. LEUKOZYTEN

Die durchschnittliche Zahl der Leukozyten schwankte bei CP-Behandlung und IP-Behandlung auch bei längerer Behandlungsdauer in den Grenzen von 4000 bis 9000 Zellen pro mm³. Diese Werte sind normal (Abb. 3 und 4).

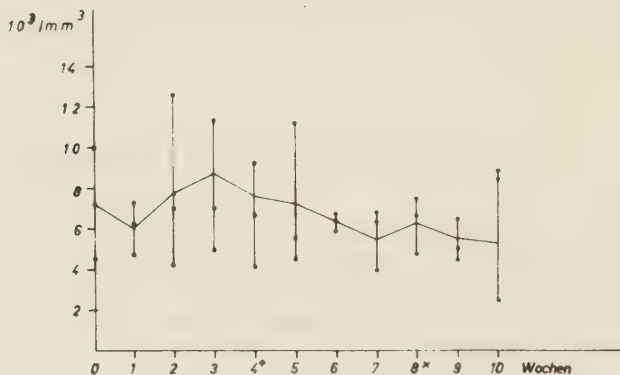


Abb. 3 Verhalten der Leukozyten unter Behandlung mit CP (12 mg/kg/Tag)

Dargestellt sind die Einzelwerte der Tiere; die Kurve verbindet die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe.

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

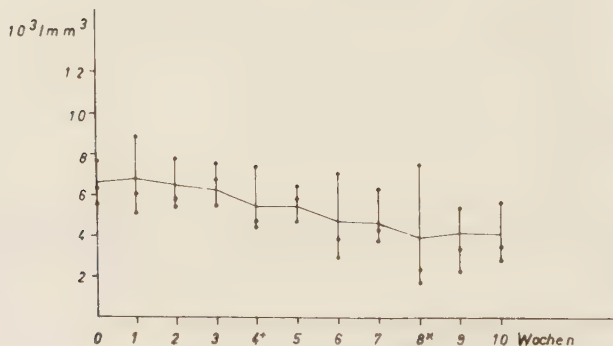


Abb. 4 Verhalten der Leukozyten unter Behandlung mit IP (12 mg/kg/Tag)

Dargestellt sind die Einzelwerte der Tiere; die Kurve verbindet die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe.

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

IV. LYMPHOZYTEN

Zwei CP-Versuchsgruppen zeigten kurzzeitig in der dritten Behandlungswoche weniger als 50% Lymphozyten, wohingegen das Differentialblutbild der IP-Gruppen kontinuierlich Werte zwischen 65 und 75 % aufwies (Abb. 5 und 6).

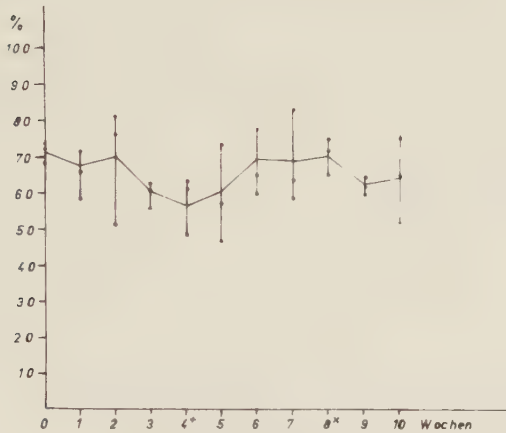


Abb. 5 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit CP (12 mg/kg/Tag)

Dargestellt sind die Einzelwerte der Tiere (prozentualer Anteil der Lymphozyten am weißen Blutbild); die Kurve verbindet die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe.

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

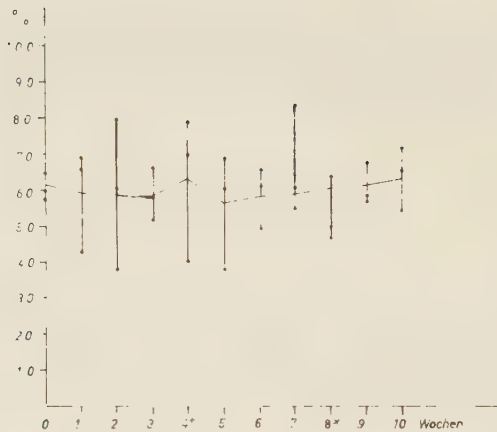


Abb. 6 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit IP (12 mg/kg/Tag)

Dargestellt sind die Einzelwerte der Tiere (prozentualer Anteil der Lymphozyten am weißen Blutbild); die Kurve verbindet die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe.

+ Steigerung der Dosis auf 14 mg/kg/Tag

x Steigerung der Dosis auf 16 mg/kg/Tag

V. IMMUNELEKTROPHORESE

Immunelektrophoretisch gewonnene Ergebnisse sind auf Grund ihres semiquantitativen Charakters schwer zu beurteilen. Jedoch ließen die Ergebnisse in keinem Falle eine Verminderung der Ig-G erkennen.

D. ERGEBNISSE DES HAUPTVERSUCHES

I. PRÜFUNG DER HUMORALEN PRIMÄRREAKTION

1. Verstorbene Tiere

Ein mit 8 mg CP/kg/Tag behandeltes Tier verstarb in der dritten Behandlungswoche, nachdem Kachexie, verbunden mit Freßunlust und Haarausfall vorausgegangen war.

Ein mit 12 mg IP/kg/Tag behandeltes Tier verstarb am 6. Behandlungstag; die Sektion ergab ein angeborenes, rupturiertes Herzaneurysma mit Hämothorax.

Die beiden anderen Tiere dieser Versuchsgruppe verstarben nach 22 Behandlungstagen, ohne daß ein deutlicher Gewichtsverlust oder eine Änderung im Verhalten der Tiere vorausgegangen war; die Sektionen ergaben keinen makroskopisch faßbaren pathologischen Befund.

Die Leukozytenzahlen waren als einziger ermittelter Parameter pathologisch (s. Abb. 8).

Unter AP-Behandlung traten keine Todesfälle auf.

2. Gewichte nach Immunisierung und Therapie

Die Gewichte der überlebenden Tiere schwankten in den physiologischen Grenzen und verhielten sich wie im Vorversuch (s. Tab. 2). Eventuelle Vergiftungserscheinungen, die sich auf das Körpergewicht der Tiere auswirkten, sind möglicherweise durch - nicht gemessenen - erhöhten Futterverbrauch ausgeglichen worden, ohne daß ein Tier in dieser Richtung aufgefallen wäre. Sollte also eine derartige Giftwirkung vorhanden gewesen sein, so war sie so schwach, daß sie durch physiologische Gegenregulation ausgeschaltet werden konnte.

3. Leukozyten nach Immunisierung und Therapie

Die starken Schwankungen während des Versuches innerhalb der Kontrollgruppe und der CP-Versuchsgruppe (Abb. 7) lassen keinen Trend erkennen; offenbar liegt keine Einfluß einer bestimmten Dosierung vor.

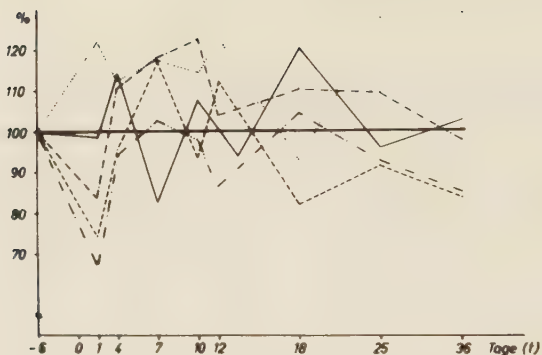


Abb. 7 Verhalten der Leukozyten unter Behandlung mit CP
Der Mittelwert der Leukozytenzahlen aller Tiere vor Behandlungsbeginn ist als 100%-Wert angegeben.

— Kontrolltiere 4 mg/kg/Tag
 - - - 6 mg/kg/Tag - · - 8 mg/kg/Tag
 - · - 12 mg/kg/Tag

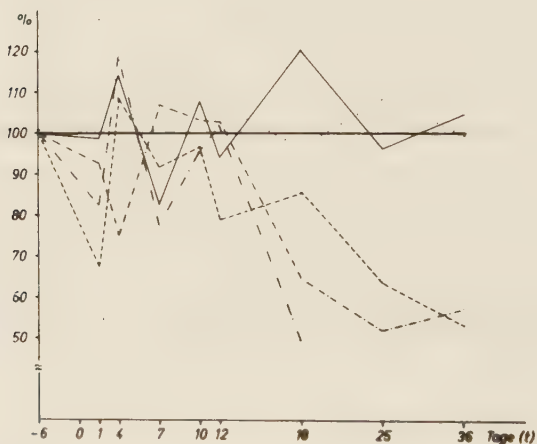


Abb. 8 Verhalten der Leukozyten unter Behandlung mit IP
Der Mittelwert der Leukozytenzahlen aller Tiere vor Behandlungsbeginn ist als 100%-Wert angegeben.

— Kontrolltiere 4 mg/kg/Tag
 - - - 6 mg/kg/Tag - · - 8 mg/kg/Tag
 - · - 12 mg/kg/Tag

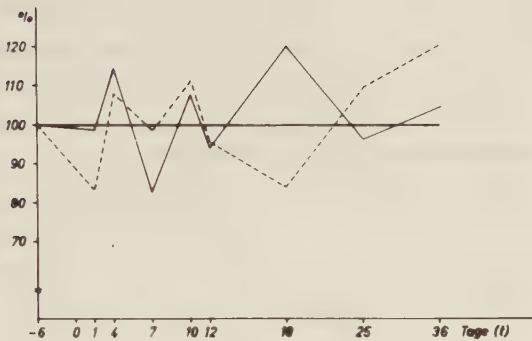


Abb. 9 Verhalten der Leukozyten unter Behandlung mit AP

Der Mittelwert der Leukozytenzahlen aller Tiere vor Behandlungsbeginn ist als 100%-Wert angegeben.

— Kontrolltiere - - - 7 mg/kg/Tag

Abb. 8 stellt die Leukozytenzahlen unter IP-Behandlung dar. Während unter der niedrigsten, hier verwendeten Dosierung die Leukozytenwerte in der physiologischen Norm blieben, ist in den höheren Dosierungen der Trend zur Leukopenie deutlich. Ein Teil der mit 12 mg/kg/Tag behandelten Tiere zeigte vor dem Tode eine Agranulozytose.

AP-Behandlung beeinflusste das Verhalten der Leukozytenzahlen nicht (Abb. 9).

4. Lymphozyten nach Immunisierung und Therapie

Verglichen mit der Kontrollgruppe, schwankten die Versuchsgruppenwerte innerhalb der physiologischen Norm uncharakteristisch, ohne daß der Einfluß einer bestimmten CP-Dosierung erkenntlich ist. Der Mittelwert aller CP-Versuchstiere ergibt keine statistisch zu sichernde Abweichung vom Kurvenverlauf der Kontrollgruppe (Abb. 10 und 11).

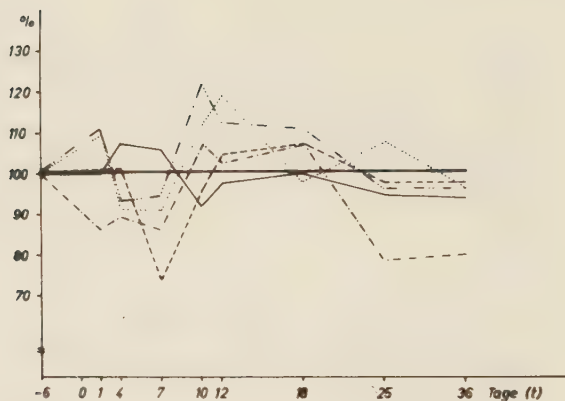


Abb. 10 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit CP

Der Mittelwert des prozentualen Anteiles der Lymphozyten im weißen Blutbild aller Tiere vor Behandlungsbeginn wird als 100%-Wert gesetzt.

————— Kontrolltiere
 4 mg/kg/Tag
 - - - - - 6 mg/kg/Tag
 - · - · - 8 mg/kg/Tag
 - - - - - 12 mg/kg/Tag

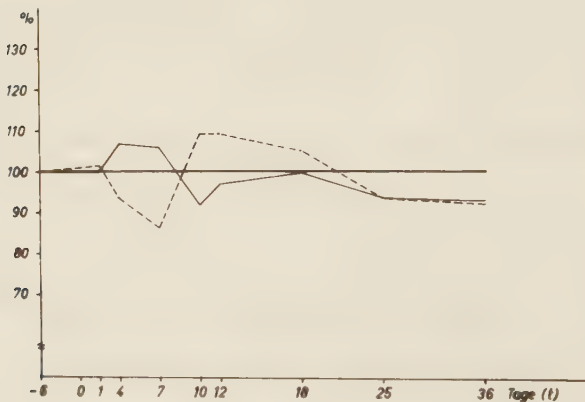


Abb. 11 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit CP

Der Mittelwert des prozentualen Anteiles der Lymphozyten im weißen Blutbild aller Tiere vor Behandlungsbeginn wird als 100%-Wert angegeben.

————— Kontrolltiere
 - - - - - CP-Tiere

Der in gleicherweise dargestellte Kurvenverlauf der einzelnen Versuchsgruppen unter IP-Behandlung (Abb. 12) ist uncharakteristisch. Die verstorbenen Tiere zeigten kurz vor dem Tode einen Anstieg der Lymphozytenzahlen, ohne die physiologische Norm (60 bis 80%) zu übersteigen.

Der Abfall der Gesamtleukozytenzahl (Abb. 8) geht also nicht zu Lasten der Lymphozyten.

Der Mittelwert aller IP-Versuchstiere weicht praktisch nicht von dem der Kontrollgruppe ab (Abb. 13).

Abb. 14 zeigt das Verhalten der Lymphozytenwerte unter AP-Behandlung. Die Kurve der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe ist fast identisch.

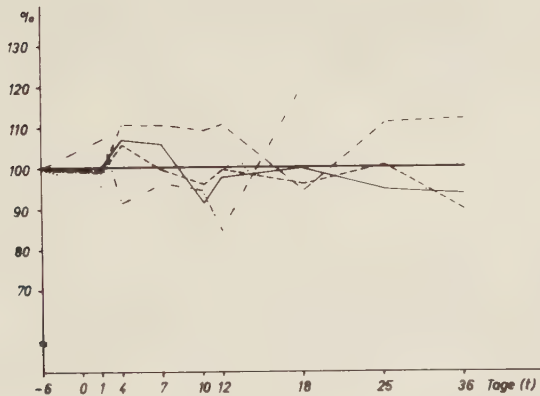


Abb. 12 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit IP

Der Mittelwert des prozentualen Anteiles der Lymphozyten im weißen Blutbild aller Tiere vor Behandlungsbeginn wird als 100%-Wert angegeben.

- | | | | |
|---------|---------------|---------|-------------|
| ———— | Kontrolltiere | | 4 mg/kg/Tag |
| - - - - | 6 mg/kg/Tag | - · - · | 8 mg/kg/Tag |
| - · - · | 12 mg/kg/Tag | | |

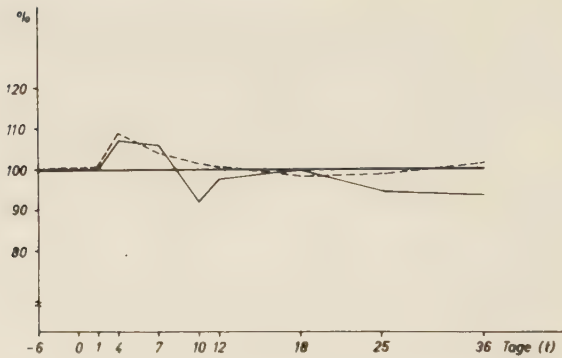


Abb. 13 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit IP

Der Mittelwert des prozentualen Anteiles der Lymphozyten im weißen Blutbild aller Tiere vor Behandlungsbeginn wird als 100%-Wert angegeben.

— Kontrolltiere - - - IP-Tiere

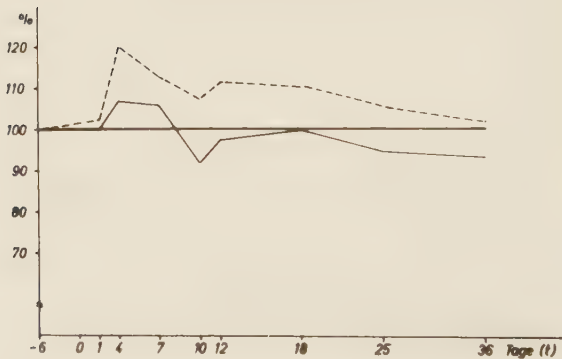


Abb. 14 Verhalten der Lymphozyten unter Behandlung mit AP

Der Mittelwert des prozentualen Anteiles der Lymphozyten im weißen Blutbild aller Tiere vor Behandlungsbeginn wird als 100%-Wert angegeben.

— Kontrolltiere - - - AP-Tiere

5. Nachweis von Ag und Ak im Serum

Das Verschwinden des Ag und der Nachweis der Ak im Serum sind in den Tabellen 3 bis 5 dargestellt.

Tabelle 3

Abhängigkeit der Primärreaktion von der AP-Dosis

Die Zahl hinter dem Schrägstrich stellt die Gesamtanzahl der Versuchsgruppe dar, die Zahl vor dem Schrägstrich gibt jeweils die Anzahl der Tiere wieder, bei denen Antigen (Ag) bzw. Antikörper (Ak) festgestellt wurden.

Diese Anordnung gilt auch für Tabelle 4

Tag nach Immunisierung		vor	1.	4.	7.	10.	12.	18.	25.	36.
7 mg/kg/Tag AP	Ag	0/6	6/6	6/6	5/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	Ak	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

Tabelle 4

Abhängigkeit der Primärreaktion von der CP-Dosis

Tag nach Immunisierung	4 mg CP/kg/Tag		6 mg CP/kg/Tag		8 mg CP/kg/Tag		12 mg CP/kg/Tag		Kontrolltiere	
	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak
vor	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4	0/3	0/3	0/4	0/4
1.	3/3	0/3	3/3	0/3	4/4	0/4	3/3	0/3	4/4	0/4
4.	3/3	0/3	3/3	0/3	4/4	0/4	3/3	0/3	2/4	2/4
7.	0/3	3/3	1/3	2/3	2/4	2/4	3/3	0/3	1/4	3/4
10.	0/3	3/3	1/3	2/3	2/4	2/4	3/3	0/3	0/4	3/4
12.	0/3	3/3	0/3	2/3	2/4	2/4	3/3	0/3	0/4	3/4
18.	0/3	3/3	0/3	3/3	0/4	3/4	0/3	3/3	0/4	4/4
25.	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	0/4	4/4
36.	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	0/4	4/4

Tabelle 5

Abhängigkeit der Primärreaktion von der IP-Dosis

Die Zahl hinter dem Schrägstrich stellt die Gesamttierzahl der Versuchsgruppe dar, die Zahl vor dem Schrägstrich gibt jeweils die Anzahl der Tiere wieder, bei denen Antigen (Ag) bzw. Antikörper (Ak) festgestellt wurden.

Tag nach Immunisierung	4 mg IP/kg/Tag		6 mg IP/kg/Tag		8 mg IP/kg/Tag		12 mg IP/kg/Tag		Kontroll- tiere	
	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak
vor	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4
1.	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	4/4	0/4
4.	3/3	0/3	3/3	1/3	3/3	0/3	3/3	0/3	2/4	2/4
7.	3/3	1/3	3/3	2/3	3/3	0/3	2/2	0/2	1/4	3/4
10.	1/3	1/3	0/3	3/3	3/3	0/3	2/2	0/2	0/4	3/4
12.	0/3	2/3	0/3	3/3	3/3	0/3	2/2	0/2	0/4	3/4
18.	0/3	3/3	0/3	3/3	3/3	0/3	2/2	0/2	0/4	4/4
25.	0/3	3/3	0/3	3/3	3/3	0/3			0/4	4/4
36.	0/3	3/3	0/3	3/3	0/3	0/3			0/4	4/4

a) Verschwinden des Ag

7 Tage nach Immunisierung war nur bei einem unbehandelten Kontrolltier Ag im Serum nachzuweisen. Unter AP-Behandlung war das Verschwinden des Ag zwischen dem 7. und 10. Tage festzustellen.

Unter CP-Behandlung war die Ag-Clearance vollständig in der 4 mg-Gruppe zwischen dem 4. und 7. Tage in der 6 mg-Gruppe zwischen dem 4. und 12. Tage in der 8 mg-Gruppe zwischen dem 4. und 18. Tage in der 12 mg-Gruppe zwischen dem 12. und 18. Tage nach Immunisierung.

Die mit IP behandelten Tiere zeigten ein Verschwinden des Ag aus dem Serum bei 4 mg/kg/Tag zwischen dem 7. und 12. Tage 6 mg/kg/Tag zwischen dem 7. und 10. Tage

8 mg/kg/Tag zwischen dem 25. und 36. Tage
12 mg/kg/Tag nach dem 18. Tage
nach Immunisierung.

b) Ak-Nachweis

Bei den Kontrolltieren waren Ak ab dem 4. Tage nachweisbar.
Unter 7 mg AP/kg/Tag waren kein Ak nachzuweisen. Unter CP bildeten alle Tiere Ak, und zwar nachweisbar bei
4 mg/kg/Tag ab 7. Tage
6 mg/kg/Tag ab 7. Tage
8 mg/kg/Tag ab 7. Tage
12 mg/kg/Tag ab 18. Tage
nach Immunisierung.

In den IP-Versuchsgruppen waren Ak nur bei
4 mg/kg/Tag ab 7. bis 18. Tage
6 mg/kg/Tag ab 4. bis 10. Tage
nach Immunisierung nachzuweisen.

Bei Dosierungen von 8 und 12 mg/kg/Tag wurden keine Ak im Serum gefunden.

6. Immunologische Befunde nach Behandlungsende

36 Tage nach Immunisierung wurde bei allen Tieren die Behandlung beendet. In 14-tägigem Abstand wurde weiterhin bis zum 60. Tage Blut entnommen. Dabei traten bei den Tieren, die eine Ak-Antwort unterdrückt oder nur niedere Titer gebildet hatten, keine neuen Ak oder höheren Titer auf; bei keinem dieser Tiere waren nach dem 45. Tage noch Ak nachweisbar. Die Versuchstiere, die hohe Ak-Titer gebildet hatten, zeigten bis zum 60. Tage einen starken Titerabfall bis zum Titerverlust.

II. IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN NACH EINER ZWEITEN AG-GABE

96 Tage nach der Erstimmunisierung erfolgte eine zweite Ag-Gabe.

Gruppe 1 besteht aus den Kontrolltieren, die ohne Behandlung eine normale zeitgerechte Antwort gebildet hatten. Sie wurden mit 8 mg IP/kg/Tag behandelt, einer Dosis, die die Primärantwort komplett supprimiert.

Gruppe 2 wurde mit derselben IP-Dosis behandelt. Sie besteht aus Tieren, bei denen die Primärantwort unter dieser Dosierung unterdrückbar war.

Gruppe 3: Die Tiere hatten unter CP-Behandlung Ak gebildet; sie wurden während des Ablaufes der Sekundärreaktion mit 12 mg CP/kg/Tag behandelt.

Tabelle 6 schematisiert das Verschwinden des Ag bzw. das Auftreten der Ak nach der zweiten Immunisierung.

Das Ag war nachzuweisen

in Gruppe 1 bis zum 18. Tage; in Gruppe 2 bis zum 18. Tage; in Gruppe 3 bis zum 12. Tage nach Immunisierung.

Ak treten auf

in Gruppe 1 ab dem 7. Tage; in Gruppe 2 ab dem 12. Tage; in Gruppe 3 ab dem 12. Tage nach Immunisierung.

Tabelle 6

Abhängigkeit der immunologischen Reaktion von IP und CP nach einer zweiten Antigengabe

Die Zahl hinter dem Schrägstrich stellt die Gesamtanzahl der Versuchsgruppe dar, die Zahl vor dem Schrägstrich gibt jeweils die Anzahl der Tiere wieder, bei denen Antigen (Ag) bzw. Antikörper (Ak) festgestellt wurden.

Tag nach Immunisierung	Gruppe 1 8 mg IP/kg/Tag		Gruppe 2 8 mg IP/kg/Tag		Gruppe 3 12 mg CP/mg/Tag	
	Ag	Ak	Ag	Ak	Ag	Ak
vor	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1.	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4
4.	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4
7.	4/4	3/4	4/4	0/4	4/4	0/4
10.	4/4	3/4	4/4	0/4	4/4	0/4
12.	2/4	3/4	2/4	2/4	4/4	3/4
18.	2/4	4/4	1/4	4/4	0/4	4/4
25.	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	3/4
36.	0/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4

E. DISKUSSION

Mit den Versuchen sollte geprüft werden, welche Einflüsse die Substanzen AP, CP und IP auf die immunologische Primär- und Sekundärantwort beim Kaninchen ausüben. In Ergänzung zu den Versuchen von MEYER ZUM BÜSCHENFELDE und FREUDENBERG, 23, und BRODEHL, 6, sollte die Frage nach pharmakodynamischen Wirkungsunterschieden dieser Substanzen unter Änderung der Applikationsart geprüft werden. In den eigenen Versuchen wurde CP und IP als Langzeitmedikament i.p. appliziert, nachdem ein einmaliger Ag-Stimulus gesetzt war. Weiterhin wurde die Toxizität dieser Substanzen unter den genannten Bedingungen geprüft.

Die eigenen Versuche haben zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. Toxizität

CP und IP beeinflussen in den angegebenen Dosierungen von 4 bis 12 mg/kg/Tag die körperliche Entwicklung - gemessen am Allgemeinzustand und Körpergewicht - nicht (Vorversuch). Im Hauptversuch starben allerdings die mit 12 mg/kg/Tag IP behandelten Tiere nach 22 Tagen; ein Einfluß der Immunisierung muß angenommen werden. Bemerkenswerterweise entwickelten die CP-Tiere mit 12 mg/kg/Tag und kontinuierlicher Steigerung der Medikation bis 16 mg/kg/Tag innerhalb von 16 Wochen eine Anämie; diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen von FÖLSCH et al., 13.

Unter IP wurden diese Befunde nicht erhoben. Umgekehrt scheint der Einfluß auf die Leukozyten zu sein: hier ist mit 6 bis 12 mg IP/kg/Tag eine Leukozytenverminderung nach 12 bis 18-tägiger Medikation aufgetreten. CP-Tiere zeigen diesen Abfall nicht. Allerdings bieten die Differentialblutbilder keinen Hinweis dafür, daß dieser Abfall zu Lasten der Lymphozyten geht. Auf eine weitergehende Differenzierung der Lymphozyten in kleine, mittlere und große wurde verzichtet, da die einfache Zählmethode keine wissenschaftlich verwertbaren Daten liefert.

2. Die Ag-Aufnahme unter AP-Behandlung war normal. Wie bei den Kontrolltieren, war am 10. Tage das Ag nicht mehr im Serum nachzuweisen. Dieser Befund ist im Hinblick auf den unterschiedlichen Wirkungstyp der Substanzen wichtig, zumal sowohl mit 7 mg AP/kg/Tag und 8 mg IP/kg/Tag jeweils keine Ak gebildet wurden.

AP scheint die Ag-Aufnahme und Ag-Verarbeitung nicht, jedoch die proliferationsstimulierbaren Zellen zu beeinflussen.

Unter CP-Behandlung besteht eine Beziehung zwischen steigender Dosis einerseits und verlängertem Nachweis des Ag im Serum sowie verspätet einsetzender Ak-Bildung andererseits.

Die IP-Therapie wirkt sich anders aus. Während unter den niedrigen Dosierungen von 4 und 6 mg/kg/Tag das Ag innerhalb einer normalen Zeitspanne aus dem Serum verschwand und Ak nicht wesentlich verzögert auftraten, verhinderten 8 und 12 mg IP/kg/Tag eine Ak-Bildung und verlängerten die Verweildauer des Ag im Serum. Die mit 8 mg/kg/Tag behandelten Tiere hatten noch am 25. Tage nach Immunisierung Ag im Serum; diese Dosis ist hinsichtlich des immunsuppressiven Effektes und wegen der geringen Toxizität für Kaninchenexperimente optimal. Bei den 12 mg-Tieren war das Ag noch bei der letzten Untersuchung vor dem Tode am 18. Tage im Serum nachzuweisen. Erst nach diesem Zeitraum ist beim Verschwinden des Ag die biologische Halbwertszeit des Ag zu berücksichtigen. Nach der zweiten Ag-Gabe konnte bei den gewählten Dosierungen keine komplette Immunsuppression, sondern lediglich eine Verzögerung der Ak-Bildung beobachtet werden. Im Vergleich zur Primärreaktion verzögerte CP die Ag-Clearance bis zum 18. Tage, nicht jedoch die Ak-Bildung.

Die bei der Primärreaktion erfolgreiche Dosis von 8 mg IP/kg/Tag reicht nicht aus, um den Boostereffekt zu supprimieren. Die Umlaufzeit des Ag im Serum war ebenfalls noch deutlich verlängert. Die Ak-Produktion zeigte folgende auffallende Unterschiede:

Versuchstiere, die eine natürliche, unbeeinflusste Primärreaktion zeigten, bildeten erwartungsgemäß früher Ak als Tiere, die mit IP während der Primärreaktion behandelt worden waren. Es ist auffallend, daß trotz erfolgreicher Unterdrückung der Primärreaktion (s. Tab. 5) im Untersuchungszeitraum nach einer zweiten Ag-Stimulierung sämtliche Tiere, wenn auch verzögert, Ak bildeten.

Daraus geht hervor, daß eine Dosis, die eine Primärreaktion komplett unterdrückt, offensichtlich nur bedingt den Zustand eines nicht vorimmunisierten Tieres erzeugt. Die suppressiv wirksame IP-Dosis zur Unterdrückung der Sekundärantwort muß demnach grundsätzlich höher gewählt werden als zur erfolgreichen Suppression der Primärreaktion. Diese Dosis liegt dann aber nach unseren oben angegebenen Erfahrungen im toxischen Bereich; diese Frage bedarf noch weiterer Prüfung.

Eine analoge Beobachtung machte FINGER, 12, mit CP an der Maus.

Eine Immunosuppression hat beim Eingreifen in den Ak-bildenden Prozeß prinzipiell folgende Möglichkeiten der Beeinflussung:

1. Beeinflussung der Ag-Aufnahme und Ag-Verarbeitung
2. Hemmung der Proliferation der Ak-bildenden Zellen
3. Störung der Proteinsynthese in den Immunozyten.

Aus den von uns an unversehrten lebenden Tieren ermittelten Parametern konnten wir Rückschlüsse - bezogen auf die Eingriffsmöglichkeiten einer Immunosuppression - ziehen. Die AP-Versuche ergaben keine verlängerte Umlaufzeit des Ag im Serum, keine Abnahme der Lymphozyten im peripheren Blutbild, aber keine meßbare Ak-Produktion. Es muß daher geschlossen werden, daß AP die Proliferation Ag-stimulierbarer Zellen blockiert (s. STERZL, 39).

CP und IP verlängern die Umlaufzeit des Ag im Serum, haben eine nicht signifikante Verminderung peripherer Lymphozyten zur Folge und erzeugen eine verspätete oder fehlende Ak-Bildung. Es läßt sich daher aus unserem Modeli kein gezielter Ort des Eingreifens von CP und IP ablesen. Am wahrscheinlichsten liegt aber ein zytotoxischer Effekt dieser Substanzen vor, der alle Zelltypen treffen kann, zentral und peripher.

Diese Vorstellung deckt sich im Prinzip mit den Ergebnissen von AISENBERG, 1, FRISCH, 14, DUKOR, 8, SCHWARTZ, 31, HOPPE, 18, POTEL, 26, und FIN-GER, 12.

Für die Bewertung eines Immunosuppressivums ist schließlich allein die komplette Unterdrückung der Immunreaktion von Bedeutung. Der von anderen Autoren festgestellte Depressoreffekt (FINGER, 10, NEIDHARDT, 24, POTEL, 27, SCHNEIDER, 29), der bei sehr hohen Ausgangstitern beobachtet wurde, ist in unseren Experimenten nicht bewertet worden. Unser Ziel war, diejenige Dosierung zu ermitteln, die eine komplette Suppression ermöglicht. Die Versuche zeigen, daß es mit CP im nichttoxischen Dosisbereich unmöglich ist, eine völlige Suppression beim Kaninchen zu erreichen.

Diese Ergebnisse - bezogen auf die Versuchsspezies Kaninchen - stimmen überein mit den Aussagen von FINGER, 10, WILDE und SCHABINSKI, 39, NEIDHARDT, 24 und REAMS, 28. Unsere Aussagen beziehen sich allerdings auf einen Ag-Stimulus mit einem löslichen Ag, i.p. verabreicht. So weist z.B. FINGER, 10, auf die

unterschiedliche Reaktion nach verschiedenartigem Ag-Reiz hin. Dies geht aus Immunisierungen mit bakteriellem Ag hervor, die bei Kaninchen schwerer zu beeinflussen sind als Immunisierungen mit löslichem Ag. Die fehlende Hemmung der Ak-Produktion nach Bruc. abortus-Infektion, 39, beim Kaninchen ist auf die niedrige Dosierung von 10 mg/kg CP jeden zweiten Tag zurückzuführen. Ebenfalls geringere CP-Dosen als wir verabfolgte NEIDHARDT, 24, an Kaninchen, ohne meßbare Suppression nachweisen zu können. Bei Verwendung anderer Tierarten lassen sich ähnliche Ergebnisse erzielen.

So zeigte SCHNEIDER, 29, an Ratten eine erhebliche Verzögerung der Immunreaktion bei täglichen CP-Gaben von 1 mg, allerdings unter Zuhilfenahme von Röntgenstrahlen nach Immunisierung mit Bruc. melitensis. DEPPE, 7, und STENDER et al., 35, erreichten mit 1 bis 5 mg CP/kg/Tag eine erhebliche Beeinträchtigung der Ak-Produktion bei Ratten. Bei Applikation massiver Stoßdosen beschrieben POTEL und BROCK, 27, STENDER et al., 34, 35, 36, KRÖGER, 19, und KUNITSCH, 20, sowie DUKOR, 8, eine negative Beeinflussung der Ak-Produktion.

An der Maus läßt sich mit CP Immuntoleranz hervorrufen, wie FRISCH und DAVIES, 14, FINGER und EMMERLING, 11, BERENBAUM, 5, BERENBAUM und BROWN, 4, AISENBERG, 1, und AISENBERG und WILKES, 2, zeigten. FINGER, 9, unterdrückte die Anaphylaxiebereitschaft der Maus mit CP, während AMIEL, 3, und HOBICK, 15, nur verminderte Immunreaktion bei der Maus sahen. Die Autoren verwendeten kein Protein als Ag und verabreichten 1 bis 2-malige CP-Dosen in Höhe von 30 bis 300 mg. (Weiterführende Literatur bei SORKIN und DE WECK, 32)

Abgesehen von den bereits erwähnten Reaktionen der unterschiedlichen Tierspezies sowie den Einflüssen der verschiedenen Ag-Arten auf die Ak-Bildung, wurden in unseren Versuchen vergleichsweise wesentlich höhere Gesamtdosen CP eingesetzt. Allein während des Ablaufes der Primärreaktion wurden in den mit 8 und 12 mg/kg/Tag dosierten Gruppen insgesamt 336 bis 503 mg/kg CP appliziert. Diese Dosen, deren stoßweise Anwendung sich aus Toxizitätsgründen verbieten, zeigen eine längeranhaltende immunsuppressive Wirkung; zumindest ist während der Behandlung keine Kumulation oder Potenzierung der toxischen Wirkung aufgetreten, wenn auch der erwünschte komplette immunsuppressive Effekt nicht zu erzielen war.

Für IP, von dem kaum Literaturangaben bestehen, liegt die Aussage deutlich vor. Zwar wirkt IP beim Menschen weniger kanzerotoxisch als CP, 21, doch scheint bei

diesem Medikament die immunsuppressive Effektivität im Vordergrund zu stehen.

Mit IP ist nach unseren Versuchen im Kaninchenexperiment eine eindeutige Unterdrückung der Ak-Produktion zu erzielen (Primärreaktion). Wir konnten somit die Ergebnisse von HOPPE, 16, 17, bestätigen, die IP als stärkeres Immunosuppressivum - verglichen mit CP - einstufen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung der Substanzen Cyclophosphamid, Iphosphamid und Azathioprin auf die humorale Immunreaktion des Kaninchens wurde geprüft.

Nach einmaliger Antigengabe von 100 mg Human Fraktion II wurden die Substanzen in Dosismbereichen von 4 bis 12 mg/kg täglich über einen längeren Zeitraum verabreicht.

Folgende Ergebnisse können festgestellt werden:

1. 7 mg Azathioprin - oral verabreicht - verhindern vollständig während der Primärreaktion die Antikörperbildung, ohne daß toxische Nebenwirkungen auftreten.
2. Cyclophosphamid (i.p.) verzögert mit steigender Dosis sowohl die Ausscheidung des Antigens aus dem Serum als auch die Bildung humoraler Antikörper; nach einer zweiten Immunisierung tritt die Immunreaktion nicht verzögert auf.
3. Für Iphosphamid (i.p.) ergeben 4 mg/kg/Tag den Grenzwert für die toxische Wirkung auf das leukopoetische System; 8 mg/kg/Tag stellen beim Kaninchen den Grenzwert quoad vitam dar.
Dosen ab 8 mg/kg/Tag supprimieren komplett die humorale Primärantwort, der Boostereffekt ist jedoch mit subtoxischen Dosen nicht zu unterdrücken.
4. Der Suppressionseffekt kleiner täglicher Gaben übertrifft beim Kaninchen die in der Literatur mitgeteilten, durch Stoßdosen erreichten Ergebnisse.

G. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 AISENBERG, A.C. Studies on Cyclophosphamide-inducend Tolerance to Sheep Erythrocytes.
J. exper. Med. 125 (1967): 833 - 845
- 2 AISENBERG, A.C.
u. B. WILKES Immunological Tolerance Induced by Cyclophosphamide assayed by Plaques Spleen Cell Method.
Nature 213 (1967): 498 - 499
- 3 AMIEL, J.L.,
G. MATHÉ, M. MATSURKA,
A.M. MÉRY, G. DADUET,
R. TENENBAUM,
GARATTINI, S.,
C. BRÉZIN u. V. PALMA Tests for the Determination of the Effect of Antimitotic Products on Immune Response.
Immunology 7 (1964): 511 - 526
- 4 BERENBAUM, M.C.
u. I.N. BROWN Dose - Response Relationships for Agents Inhibiting the Immune Response.
Immunology 7 (1964): 248 - 291
- 5 BERENBAUM, M.C. Prolongation of Homograft Survival in Mice with Single Doses of Cyclophosphamide.
Nature 200 (1963): 84
- 6 BRODEHL, H.D. Die suppressive Wirkung von Azathioprin, Cyclophosphamid und Iphosphamid auf die immunologische Sofort- und Spätreaktion im Tierexperiment.
Dissertation, Mainz 1971
- 7 DEPPE, H.D.
u. L. LUTZMANN Einfluß eines anabolen Steroids auf die cyto- statisch gehemmte Antikörper-Bildung bei der Ratte.
Zschr. Hyg. 149 (1964): 401 - 406
- 8 DUKOR, P.
u. F.M. DIETRICH Medikamentöse Erzeugung spezifischer Immun- toleranz: Besonderheiten der immunsuppressi- ven Wirkung von Cyclophosphamid und Kortison.
Aus: Organtransplantation, Stuttgart 1969, S. 255 - 268
- 9 FINGER, H. Die Bedeutung bakterieller Adjuvantien für die Ausbildung der Anaphylaktischen Schockbereit- schaft bei Maus und Ratte.
Zschr. Hygiene 151 (1965): 248 - 298
- 10 FINGER, H. Die Depression der primären Immunitätsreaktion durch 6- Mercaptopurin und Cyclophosphamid bei verschiedenen Tierarten.
Zschr. ges. exper. Med. 143 (1967): 105 - 120

- 11 FINGER, H.
u. P. EMMERLING Einfluß von Bordetella pertussis auf das lymphatische Gewebe von Mäusen.
Zschr. Immunitätsforschung 136 (1968): 351 - 361
- 12 FINGER, H.,
P. EMMERLING
u. E. BRÜSS Das immunologische Gedächtnis der Maus nach Cyclophosphamid-Behandlung.
Zschr. f. Immunitätsforschung 138 (1969): 191 - 206
- 13 FÖLSCH, E.,
W. BRÜGGER
u. H. IMMISCH Zur Beeinflussung der hämatotoxischen Effekte von Cyclophosphamid durch das anabole Steroid Nortestosteronphenylpropionat.
Verh. dtsh. Ges. Inn. Med. 73 (1967): 453 - 457
- 14 FRISCH, A.W.
u. G. DAVIES Inhibition of Hemagglutinin Synthesis by Cytoxin.
Cancer Research 25 (1965): 745 - 751
- 15 HOBIG, H.P. Der Einfluß immunsuppressiver Agenzien auf die Graft-versus-Host-Reaktion in der Maus.
Aus: Organtransplantation, Stuttgart 1969, S. 269 - 274
- 16 HOPPE, J. Der Einfluß von Zytostatika auf die Antikörperbildung in der "in vivo-Kultur".
5. Internat. Kongreß für Chemotherapie 1967 Wien B 8/16
- 17 HOPPE, J. Die Erholung des immunologischen Stammzellkompartements nach Einwirkung von Endoxan-einzeldosen.
Aus: Organtransplantation, Stuttgart (1969), S. 281 - 285
- 18 HOPPE, J.,
MASAOKA
u. E. JAHN Faktoren mit Einfluß auf den immunsuppressiven Endoxaneffekt.
Verh. dtsh. Ges. Inn. Med. 74 (1968): 1264 - 1267
- 19 KRÖGER, H. et al. Einfluß von Endoxan (Cyclophosphamid) und 6-Mercaptopurin auf den Nucleinstoffwechsel der Rattenmilz während der Synthese von Antikörpern gegen Brucella abortus.
Zschr. Naturforschung 236 (1968): 73 - 75
- 20 KUNITSCH, G.
u. H.St. STENDER Kombinierte immunsuppressive Maßnahmen zur Verlängerung der Überlebenszeit von Hauttransplantaten.
Aus: Organtransplantation, Stuttgart (1969), S. 275 - 280
- 21 MARTIN, H. et al. Erfahrungen mit neuartigen N-Last-Phosphamid-Estern.
Dtsch. med. Wschr. 95 (1970): 491 - 497

- 22 MAKINODAN, T.,
J.F. ALBRIGHT,
E.H. PERKINS and
P. NOTTESHEIM
Suppression of Immunologic Responses.
The medical Clinics of North America Nr. 6
(1965): 1569 - 1596
- 23 MEYER ZUM BÜSCHEN-
FELDE, K.H. und
J. FREUDENBERG
Untersuchungen über die Suppression humoraler
Antikörper durch Azathioprin im Tierexperiment.
Klin. Wschr. 47 (1969): 379 - 382
- 24 NEIDHARDT, M.
Antikörperdepression durch die Therapie maligner
Tumore und akuter Leukämie des Kindesalters.
Habilitationsschrift Mainz 1968
- 25 OUCHTERLONY, O.
Antigen- Antibody Reactions in Gels.
Acta pathol. microbiol. scand. 26 (1949): 507
- 26 POTEL, J.
Die Beeinflussung immunologischer Reaktionen
durch canzerotoxische Substanzen.
Drug Research 15 (1965): 527 - 532
- 27 POTEL, J. und BROCK
Die Beeinflussung immunologischer Reaktionen
durch canzerotoxische Substanzen.
Drug Research 15 (1965): 659 - 666
- 28 REAMS, G.B.
Use of cyclophosphamide in an Attempt of
modify the Canine Renal homografit Response.
Nature 197 (1963): 713 - 714
- 29 SCHNEIDER, R.
Vergleichende Untersuchungen über die Wirk-
samkeit einiger Zytostatika und der Röntgen-
bestrahlung.
Strahlentherapie 124 (1964): 75 - 85
- 30 SCHWARTZ, R.S.
Immunosuppressive Drugs.
Prgr. allergy 9 (1965): 246 - 303
- 31 SCHWARTZ, R.S.
u. Y. BOREL
Principles of Immunosuppressive Drug Action.
Aus: Textbook of Immunopathology, New York
and London (1968), Vol 1: 227 - 235
- 32 SORKIN, E.,
A. DE WECK
The Immune Response and its Suppression.
E. Karger, Basel, New York 1969
- 33 STAVITSKY, A.B.
and E.R. ARQUILLA
Studies of Proteins and Antibodies by Specific
Hemagglutination and Hemolysis of Protein-
Conjugated Erythrocytes.
Intern. arch. Allergy Appl. immunology
13, 1 (1968)
- 34 STENDER, H.S.,
D. RINGLEB et al.
Vergleichende Untersuchungen über die Behin-
derung der Antikörperbildung durch Röntgen-
strahlen und einen N-Lost- Phosphamidester.
Strahlentherapie Band 115, Heft 2 (1961):
175 - 186

- 35 STENDER, H.S.,
STRAUCH, WINTER und
TEXTOR Die Wirkung des Cyclophosphamids bei fraktionierter und massierter Dosierung auf die Antikörperbildung.
Drug Research 13 (1963): 1031 - 1034
- 36 STENDER, H.S.,
D. RINGLEB et al. Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch Zytostatika und Röntgenbestrahlung.
Strahlenforschung und Krebsbehandlung Band 43: 392 - 399
- 37 STERZL, J. The Effect of Immunosuppressive Drugs at Various Stages of Differentiation of Immunologically Competent Cells.
Aus: Immunity, Cancer and Chemotherapy
New York, London (1967): 71 - 101
- 38 STERZL, J. Studies on Differentiation of Immunocompetent Cells Using Immunological Inhibition.
Antibiotica et Chemotherapie, 15 (1969): 135 - 154
- 39 WILDE, J.
u. G. SCHABINSKI Die Beeinflussung spezifischer und unspezifischer immunol. Reaktionen durch Cytostatika.
Zschr. ges. exper. Med. 144 (1967): 250 - 257

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. et
Dr. med. vet. Karl-Hermann MEYER ZUM BÜSCHENFELDE
für die freundliche Überlassung des Themas und seinen wert-
vollen Rat bei der Ausführung der vorliegenden Arbeit.

LEBENS LAUF

2.2.1944	in Allenstein/Ostpr. als Sohn des Studienassessors Theodor Haspel und seiner Ehefrau Gertrude, geb. Dominik, geboren
Frühjahr 1945	Flucht nach Brückenau/Unterfranken
Herbst 1950	Einschulung in die Volksschule Brückenau
Herbst 1953	Umzug unserer Familie nach Koblenz
Ostern 1954	Aufnahme in das Staatliche Görres-Gymnasium Koblenz
Ostern 1963	Abitur am Staatlichen Görres-Gymnasium Koblenz
1. April 1963	Eintritt in die Bundeswehr zur Ableistung eines freiwilligen zweijährigen Wehrdienstes
Sommersemester 1965	Immatrikulation an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Sommersemester 1967	Ärztliche Vorprüfung an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
18.7.1969	Heirat mit stud.rer.nat. Ursula Struth, Umzug nach Mainz-Kostheim
Sommersemester 1971	Ärztliche Prüfung an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
1.9.1971	Medizinalassistent am Städt. Krankenhaus Kirn, Umzug nach Kirn 7 Monate Innere Abteilung (Chefarzt Dr. W. Schön) 5 Monate Chirurgische Abteilung (Chefarzt Dr. W. Jung)
1.9.1972	Eintritt in die Bundeswehr als Stabsarzt Dienststelle: Institut für Wehrmedizin und Hygiene (Leiter: Oberstarzt Professor Dr. K.F. Schaller) Koblenz, Umzug nach Koblenz

7.9.1972

Erteilung der Approbation

13.2.1970 und

Geburt unserer Kinder Clemens und

16.3.1973

Sabine

